

慢性関節リウマチ患者関節液中T細胞のII型コラーゲン反応性

著者	藤本 昌樹
発行年	1993-03-23
URL	http://hdl.handle.net/10422/1946

氏名・（本籍） 藤 本 昌 樹（京都府）

学 位 の 種 類 博士（医学）

学 位 記 番 号 博 士 第140号

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位授与年月日 平成5年3月23日

学位論文題目 慢性関節リウマチ患者関節液中T細胞のII型コラーゲン反応性

審 査 委 員 主査 教授 瀬 戸 昭

副査 教授 服 部 隆 則

副査 教授 福 田 眞 輔

論 文 内 容 要 旨

〔目 的〕

慢性関節リウマチ（RA）の原因は未だ不明であるが、関節軟骨を構成する自己抗原、とりわけII型コラーゲン（CII）に対する免疫異常がその主因であるとする考えがある。RA患者血清中にCIIに対する抗体価の上昇が見られるという事実は、この考えを支持するものである。しかし細胞性免疫異常の有無については意見が分かれる。そこでRA関節に浸潤しているT細胞のCII反応性を調べる目的で本研究を行った。

〔方 法〕

〈実験1〉 RA患者23例の膝関節液および末梢血から単核細胞を分離し、各種抗原添加による増殖反応を ^3H -thymidine (^3H -TdR) の取りこみ量により評価した。抗原としてはウシI型コラーゲン（CI）、ウシII型コラーゲン（CII）、精製ツベルクリン（PPD）、破傷風トキソイド（TT）を用いた。また23例中21例についてはクラスIおよびクラスIIの組織適合性抗原（HLA）を調べた。

〈実験2〉 RA患者の膝関節液から単核細胞を分離し、これとヒト急性T細胞白血病細胞株との間でエメチソーアクチノマイシンD法により細胞融合を行った。得られたハイブリドーマにつきクローニングを行い抗原反応性を調べた。またフローサイトメトリーによりその表面抗原の解析を行なった。

〈実験3〉 実験1でCIIに反応性を示した3例のRA患者より関節液単核細胞を分離し、限界希釈後、IL-2、OKT3刺激によりクローン株を作成した。得られたクローンにつき、実験1と同様に各種抗原反応性を調べるとともにその表面抗原の解析を行なった。

〔結 果〕

〈実験1〉 末梢血単核細胞については23例全例において、いずれの抗原刺激によっても ^3H -TdR取りこみ量の有意な増加は認められなかった。関節液単核細胞については、5例でCIIを抗原として加えた場合にのみ ^3H -TdR取りこみ量が有意に上昇していた。また別の1例は、CI、CII、PPD、TTいずれの抗原についても対照に比べ ^3H -TdR取りこみ量が有意に上昇していた。残りの17例については、いずれの抗原に対しても有意の反応性を示さなかった。CII反応性とHLAとの関係では、CII反応群は非反応群に比べDR4陽性者の率が高い傾向にあり、またDRw53陽性者は有意に高率であった。（ $p<0.05$ ）。DRw53陽性かつDQw1陽性者はさらに有意に高率であった。（ $p<0.01$ ）

〈実験2〉 細胞融合により3クローンのハイブリドーマが得られた。しかし、これらは親細胞が発現するCD3などの表面抗原を欠いており、各種抗原に対する反応性も認めなかった。

〈実験3〉得られた12クローンの表面抗原の解析の結果、 $\alpha\beta$ T細胞が9クローン、 $\gamma\delta$ T細胞が3クローンであった。これらの抗原反応性を調べたところ、 $\gamma\delta$ T細胞クローンの1つがCI、CII、PPDいずれの抗原に対しても反応性を示した。他の11クローンはいずれの抗原に対しても反応性を示さなかった。

[考 察]

実験1の結果より、RA患者の一部はCIIに対する免疫異常を有していることが明らかとなった。CIIに反応した6例（CII反応群）と、いずれの抗原にも反応しなかった17例（非反応群）との間で、X線stage、Lansbury指数、罹病期間について比較検討したが、いずれの項目についても両群間に有意差はなかった。CII反応性と遺伝因子との関係を見ると、DRw53保有者は有意な差でCII反応性を示していた。DRw53がRAの関節破壊の進行に関連するというデータを考慮すると、この遺伝因子を持つ者は、滑膜炎の経過中に自己抗原であるCIIに対する免疫異常を獲得し、炎症が持続化している可能性がある。

実験1は関節液中の単核細胞の機能の総和を見たものであり、どのような種類のT細胞が抗原刺激に反応しているのかという点は明らかではない。そこで、実験2、3でT細胞クローン株の樹立を試みた。この結果、実験2では、ヒトのハイブリドーマは融合前の細胞形質の維持が非常に困難であり、有用なクローンが得られなかったが、実験3ではCII反応性の $\gamma\delta$ T細胞クローンが樹立された。RA初期に関節液中の $\gamma\delta$ T細胞が増加するとの報告はあるが、その果たす役割は不明であった。 $\gamma\delta$ T細胞には結核菌々体成分に反応性を示すものがあるとされているが、コラーゲンに反応するという報告はない。しかし今回の実験で、RA関節液中に、結核菌々体成分のみならず自己蛋白であるコラーゲンに反応する $\gamma\delta$ T細胞が存在することがわかった。このようなT細胞の存在は、局所で炎症の持続に重要な働きをしているものと推測される。

[結 論]

RA関節液中には、自己抗原であるII型コラーゲンに反応するT細胞が存在し、局所の炎症の持続化に重要な役割を果たしているものと考えられる。また、この反応性は遺伝的に規定されている可能性も示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

慢性関節リウマチ（RA）の発症機序は未だ不明であるが、関節軟骨を構成するII型コラーゲン（CII）に対する細胞性自己免疫反応がその主たる原因であるとする考えがある。本研究では、RA患者の関節に浸潤しているT細胞について抗原反応性を検討して以下の結果を得ている。

（1）RA患者23例の膝関節液からリンパ球を分離し、これらの細胞の抗原反応性をウシI型、II型コラーゲン（CI、CII）、精製ツベルクリン（PPD）、破傷風トキシイド（TT）について検討し、23例中6例でCIIに対する特異的反応性を認めた。このCII反応性と患者の主要組織適合抗原DRw53との間には有意の相関が認められた。

（2）RA患者の関節液からリンパ球を分離してヒトT細胞白血病細胞株とのハイブリドーマを作製し、その抗原反応性を調べたが、CIIに反応を示すハイブリドーマは得ることは出来なかった。

（3）CIIに対する反応性リンパ球を有する3人のRA患者関節液から培養細胞クローン株12株を樹立し、その細胞性状を調べたところ9株は $\alpha\beta$ T細胞レセプターを有するヘルパーT細胞であり、残

りの3株は $\gamma\delta$ T細胞であった。これらの細胞株のうち $\gamma\delta$ T細胞の1株がCI、CII、PPDと反応を示した。

以上の結果は、RA患者の関節液中には、自己抗原であるII型コラーゲンに反応する $\gamma\delta$ T細胞が存在し、局所の炎症の誘発と持続に関与する可能性を示唆するとともに、DRw53組織適合抗原を保有していることがRA発症の遺伝的素因となることを指摘している点で重要であり、博士（医学）の学位の授与に値すると認める。